

BEST AVAILABLE COPY

L2 ANSWER 56 OF 267. CA COPYRIGHT 2004 ACS on STN
 AN 132:223807 CA
 ED Entered STN: 14 Apr 2000
 TI Preparation of cellulase synergistic protector solution and its use in
 treating cellulose fiber
 IN Zhang, Mei; Zhang, Xiaoling; Liu, Ruigiong; Tu, Zaorui
 PA Beijing Inst. of Textile Science, Peop. Rep. China
 SO Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu, 10 pp.
 CODEN: CNXXEV
 DT Patent
 LA Chinese
 IC ICM D06M016-00
 CC 40-7 (Textiles and Fibers)
 Section cross-reference(s): 7, 43, 44, 46

FAN.CNT 1

| PATENT NO. | KIND | DATE | APPLICATION NO. | DATE |
|---------------------|------|----------|-----------------|----------|
| PI CN 1199116 | A | 19981118 | CN 1997-111773 | 19970514 |
| PRAI CN 1997-111773 | | 19970514 | | |

CLASS

| PATENT NO. | CLASS | PATENT FAMILY CLASSIFICATION CODES |
|------------|-------|------------------------------------|
|------------|-------|------------------------------------|

| | | |
|------------|-----|------------|
| CN 1199116 | ICM | D06M016-00 |
|------------|-----|------------|

AB The protector is composed of 0.5-5.0 M alc. soln. 1-35, 0.2-1.5 M nonionic
 surfactant soln. 0.1-10.0, 0.05-1.0 M polysaccharide soln.
 0.4-7.0, 0.5-1.0 M org. acid 0.05-2, and water to 100%. The protector may
 contain 0.1-0.9 M inorg. salt 0.5-10%. The alc. is selected from ethanol,
 ethylene glycol, glycerin, pentaerythritol, polyethylene glycol, and
 sorbitol; the surfactant from Tween-20, polyoxyethylene alkyl
 ether, polyoxyethylene aryl ether, polyoxyethylene alkyl ester,
 polyoxyethylene aryl ester, polyoxyethylene alkylphenol ether, and
 polyethylene glycol sorbitol laurate; the polysaccharide from
 methylcellulose, ethylcellulose, hydroxymethylcellulose, lactose, and
 sucrose; the org. acid from formic acid, acetic acid, propanoic acid, and
 oxalic acid; and the inorg. salt from NaCl, NaOAc, Na formate, Na3PO4,
 NaH2PO4, Na2HPO4, Ca formate, Ca(OAc)2, CaCl2, MgCl2, and Mg(OAc)2. The
 cellulose type fiber is treated by soaking the fiber in the protector
 soln. at 45-55.degree. and pH 4.5-5.5 for 30-90 min. The ratio of the
 protector-cellulose fiber is 0.2-5:100.

ST cellulase protector prepn cellulose fiber treatmen

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl⁶

D06M 16/00



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 97111773.X

[43]公开日 1998 年 11 月 18 日

[11] 公开号 CN 1199116A

[22]申请日 97.5.14

[71]申请人 北京纺织科学研究所

地址 100026北京市朝阳区金台路甜水园十号

[72]发明人 张 镁 张晓岭 刘瑞琼 涂赞润

[74]专利代理机构 北京市第三专利代理事务所

代理人 母宗绪

权利要求书 2 页 说明书 7 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 纤维素酶增效保护剂及其处理纤维素系纤维的方法

[57]摘要

本发明涉及纤维素酶增效保护剂及用带有纤维素酶增效保护剂的纤维素酶处理纤维素系纤维的方法。该增效保护剂含有有机溶剂、非离子表面活性剂、保护剂、有机酸。将增效保护剂、纤维素酶和水混合于 5—25℃ 进行保存。将纤维素系纤维浸泡在带有增效保护剂的粗制纤维素酶溶液中, 在一定的浴比、pH 值、温度下搅动来进行纤维素系纤维的处理。其效果是酶的保存期长、活性损失小, 用量减少, 降低了成本。

权 利 要 求 书

1. 一种纤维素酶增效保护剂，其特征是，含有：

1) 作为有机溶剂的0.5~5.0摩尔/升的醇水溶液为1~35%，重量百分数，下同，

2) 0.2~1.5摩尔/升的非离子表面活性剂的水溶液为0.1~10.0%，

3) 作为保护剂的0.05~1.0摩尔/升的多糖类的水溶液为0.4~7.0%，

4) 0.5~1.0摩尔/升的有机酸为0.05~2%，余量为水。

2. 根据权利要求1的一种纤维素酶增效保护剂，其特征是，作为有机溶剂的1.0~3.0摩尔/升的醇水溶液为1~30%。

3. 根据权利要求1或2的一种纤维素酶增效保护剂，其特征是，所说的醇为乙醇、乙二醇、丙三醇、季戊四醇、聚乙二醇、山梨醇其中的一种醇。

4. 根据权利要求1的一种纤维素酶增效保护剂，其特征是，所说的非离子表面活性剂为吐温-20、烷基聚氧乙烯醚、芳基聚氧乙烯醚、烷基聚氧乙烯酯、芳基聚氧乙烯酯、烷基酚聚氧乙烯醚、聚氧乙烯山梨醇酐单月桂酯其中的一种。

5. 根据权利要求1的一种纤维素酶增效保护剂，其特征是，所说的多糖类为甲基纤维素、乙基纤维素、羟甲基纤维素、乳糖、蔗糖其中的一种。

6. 根据权利要求1的一种纤维素酶增效保护剂，其特征是，所说的有机酸为甲酸、乙酸(又称醋酸)、丙酸、草酸其中的一种。

7. 根据权利要求1的一种纤维素酶增效保护剂，其特征是，增效保护剂中还含有0.1~0.9摩尔/升的无机盐水溶液为0.5~10%。

8. 根据权利要求7的一种纤维素酶增效保护剂，其特征是，所说的无机盐为氯化钠、醋酸钠、甲酸钠、磷酸钠、磷酸氢二钠，磷酸二氢钠、甲酸钙、醋酸钙、氯化钙、氯化镁、醋酸镁其中的一种。

9. 用纤维素酶增效保护剂保存纤维素酶的方法，其特征是，将纤维素酶增效保护剂为20~50%，重量百分数，下同，粗制纤维素酶固体粉末5~40%，余量为水，充分搅拌1~2小时，于5~25℃的温度下进行保存。

10. 根据权利要求9的用纤维素酶增效保护剂保存纤维素酶的方法，其特征是，纤维素酶增效保护剂为20~30%。

11. 用带有纤维素酶增效保护剂的纤维素酶处理纤维素系纤维的方法，其特征是，将保存适宜时间和适宜量的带有增效保护剂的粗制纤维素酶，

以一定的浴比，于PH4.5~5.5，45-55℃的温度下，将待处理的纤维素系纤维在带有纤维素酶增效保护剂的粗制纤维素酶溶液中浸泡并搅动适宜时间。

12. 根据权利要求11的处理纤维素系纤维的方法，其特征是，其浴比为1：12~20。

13. 根据权利要求11的处理纤维素系纤维的方法，其特征是，浸泡下搅动的时间为30~90分钟。

14. 根据权利要求11的处理纤维素系纤维的方法，其特征是，所说的适宜量的带有增效保护剂的粗制纤维素酶为每100 公斤纤维素系纤维加入粗制纤维素酶固体粉末为0.2-5公斤。

说明书

纤维素酶增效保护剂及其处理纤维素系纤维的方法

本发明涉及纤维、纱、线、织物或这些原料制成的纤维制品的生化处理，更具体地说纺织用纤维素酶增效保护剂及用带有纤维素酶增效保护剂的纤维素酶处理纤维素系纤维的方法。

纤维素酶用于纺织后整理，可进行棉、麻及混纺织物的生物减量加工，获得超级柔软、低温抛光、取消石磨的效果，具有节能、提高效率、保护环境的优点，其缺点是加工成本较高。

纤维素酶为一种生物制剂，稳定性比较差，易受环境影响发生腐败或活力丧失。为了解决上述问题，各国这方面的研究者作了大量的研究工作，例如制成干粉或微囊，但其工艺复杂，使用不便，这种方法的另一个缺点是只能使纤维素酶活力损失减小，很难使原有活力有所提高。

中国专利文献CN1102531A介绍了纤维素酶制剂以及用其处理纤维素系纤维的方法。提供了抑制纤维素系纤维的强度下降的纤维素酶制剂，而且这种纤维素酶制剂又可以改进纤维素系纤维的颜色、手感，用它处理纤维时，当减重率为5%时，能保持75%以上的相对残余拉伸强度。该纤维素酶制剂作为优选的纤维素酶成分使用来自木霉属的纤维素酶，除了具有对结晶性纤维素有吸附性，其成分的微晶纤维酶活性/CMC_{ase}活性是0.1以上的性质外，还具有平均分子量约59Kd(按SDS-PAGE)，等电点约3.8~4.2，100单位/全固形成分1g以上的微晶纤维酶活性，最佳PH约4.2~4.8。在使用上述的纤维素酶时，可以加入适当的添加剂，作为添加剂的可以是PH调节剂，例如磷酸盐、醋酸盐，稳定剂例如甘油、蔗糖等。该发明所用的纤维素酶制剂仅可减低了纤维素系纤维的强度下降，改进了纤维素系纤维的颜色、手感，而其加入的添加剂没有显示出对纤维素酶的增效和保护作用。

酶整理效果主要取决于所用酶活力的大小，因此能否通过某种方式激发酶活使酶增效，减少酶的用量，并对酶进行保护保持酶的稳定性，是降低生物酶整理成本的关键，也就是酶的增效和保护问题。关于酶的增效和保护，其实质是如何使酶的活性中心处于酶蛋白质三维立体构象的最佳位置，并使该位置因竞争性抑制剂的加入而保持稳定的问题。本发明的发明者研究了纤维素酶的组成、浓度、PH值、温度、无机离子、有机溶剂及表

面活性剂等对纤维素酶活力的影响，找出了激发酶活使其增效并又使其稳定的主要影响因素。

本发明的目的就在于研究出一种纺织用纤维素酶的增效保护剂及用其处理纤维素系纤维的方法。

本发明研制出了纤维酶增效保护剂，通过调节PH值、溶解度，而进行“占位性”保护，使纤维素酶在储存条件下处于暂时抑制状态；在使用条件下，释放最大活力。纤维素酶的活力，除取决于本身活性基团外，还与立体构象及PH值、温度、底物浓度、酶的浓度等因素有关。因此，可以通过环境及添加剂综合控制，进行激活和可逆性抑制。添加剂的加入有利于纤维素酶的保存和激活。当环境的温度小于40度，底物浓度大大小于酶的浓度的储存条件下，纤维素酶处于暂时性抑制状态；当底物浓度大大高于酶的浓度，温度为50度左右时，释放最大活力。

本发明的一种纤维素酶增效保护剂，含有：

- 1) 作为有机溶剂的0.5~5.0摩尔/升的醇水溶液为1~35%，重量百分数，下同；
- 2) 0.2~1.5摩尔/升的非离子表面活性剂的水溶液为0.1~10.0%；
- 3) 作为保护剂的0.05~1.0摩尔/升的多糖类的水溶液为0.4~7.0%。
- 4) 0.5~1.0摩尔/升的有机酸为0.05~2%，余量为水。

在增效保护剂中又以作为有机溶剂的1.0~3.0摩尔/升醇的水溶液为1~30%为佳。

所说的醇为乙醇、乙二醇、丙三醇、季戊四醇、聚乙二醇、山梨醇其中的一种醇；所说的非离子表面活性剂为吐温-20、烷基聚氧乙烯醚、芳基聚氧乙烯醚、烷基聚氧乙烯酯、芳基聚氧乙烯酯、烷基酚聚氧乙烯醚、聚氧乙烯山梨醇酐单月桂酯其中的一种；所说的多糖类为甲基纤维素、乙基纤维素、羟甲基纤维素、乳糖、蔗糖其中的一种；所说的有机酸为甲酸、乙酸(又称醋酸)、丙酸、草酸其中的一种。

为了使纤维素酶增效保护剂产生更好的保护作用 and 激发作用，在增效保护剂中还含有0.1~0.9摩尔/升的无机盐水溶液为0.5~10%。所说的无机盐为氯化钠、醋酸钠、甲酸钠、磷酸钠、磷酸氢二钠，磷酸二氢钠、甲酸钙、醋酸钙、氯化钙、氯化镁、醋酸镁其中的一种。纤维素酶增效保护剂按上述成分和含量均匀混合1-2小时即可。

纤维素酶增效保护剂的作用就在于：

1. 它可以调节PH值，酸性纤维素酶PH为4.5-5.5时，其活力在室温下暂时受到抑制，而在50℃使用时又可以恢复最大活力。因此PH值为稳定和激活纤维素酶的必要条件。增效保护剂的加入可调节离子浓度和电离平衡状态。当离子浓度在一定范围变化时，PH值维持相对稳定，同时当PH在一定范围变化时，纤维素酶也能保持一定的相对活力。

2. 增加溶解度。一般纤维素酶采用固体霉发酵法。所产生的胞外酶与孢子不易分离，因此粗制酶往往溶解度较低，影响活力。加入增效保护剂，可促进其溶解，增加反应体系的有效成分，从而激发了活力。

3. 调节立体构象，化学结构为蛋白质的纤维素酶化学性质很活泼，其活性部位可能不止一个，但由于受到离子键、氢键、范德华力等因素的影响，立体构象不能满足催化条件，活性部位被暂时隐蔽起来。增效保护剂加入后，在不改变化学结构的情况下，通过调整分子间力，调整立体构象，使活性部位充分释放出来，从而被激活。

4. 进行“占位性”保护。增效保护剂中的所含的物质中具有活性基团可与纤维素酶活性部位暂时结合，但因立体构象与底物不完全一致，少量存在时，不能导致催化反应的发生。当底物大大过量后，“占位性”物质可将活性部位让给底物，促使水解过程发生。因此增效保护剂起到“可逆性”抑制的作用。

5. 防止杂菌污染。杂菌污染是纤维素酶失活的主要原因之一。添加剂的加入，防止了杂菌污染，减少了酶活力的损失。

6. 利于去除低分子降解物，防止再沾污。

本发明所用的纤维素酶为国产粗制酶，由真核微生物属木霉属绿色木霉产生(*T. richoder viride*)。国产的粗制纤维素酶有江苏盐城酶制剂厂生产的纤维素酶，辽宁酶制剂厂产的纤维素酶。

为了使纤维素酶得到增效和保护。用纤维素酶增效保护剂保存纤维素酶的方法，是将上述的纤维素酶增效保护剂20-50%，重量百分数，下同，粗制纤维素酶固体粉末5-40%，余量为水，充分搅拌1-2小时，于5-25℃的温度下进行保存，形成带有增效保护剂的纤维素酶。所用的水为蒸馏水、离子交换水、普通自来水其中的一种水。

为了更好地对纤维素酶进行保存，将上述的纤维素酶增效保护剂 20

-30%，粗制纤维素酶固体粉末5-40%，余量水，充分搅拌1-2小时，于5-25℃的温度下进行保存为好。

用带有纤维素酶增效保护剂的纤维素酶处理纤维素系纤维的方法，将上述保存适宜时间和适宜量的带有增效保护剂的粗制纤维素酶，以一定的浴比，于PH4.5~5.5，45-55℃的温度下将待处理的纤维素系纤维在带有纤维素酶增效保护剂的粗制纤维素酶溶液中浸泡并搅动适宜时间，使处理后的纤维素系纤维减量达到超级柔软，低温抛光，取消石磨的效果。

减量率的测定的方法是将处理前后纤维素系纤维例如两块布放入烘箱，于105℃的温度下烘干至恒重，取出后放在干燥器中冷却，分别称量，再按下列公式计算出减量率。

$$\text{减量率 (\%)} = \frac{\text{处理前纤维素重} - \text{处理后纤维素重}}{\text{处理前纤维素重}} \times 100\%$$

所说的浴比为纤维素系纤维的重量与液体的量(所加的带有增效保护剂的纤维素酶的液体量与另外所加的水的量)的比，其浴比为1:12~20为佳，浸泡下搅动的时间以30~90分钟为宜。所说的适宜量的带有增效保护剂的粗制纤维素酶为每100公斤纤维素系纤维加入粗制纤维素酶固体粉末0.2-5公斤。

测定纤维素酶活性测定的方法是滤纸酶活测定法。

纤维素酶活力损失的百分数是按下式定义：

$$\text{活力损失百分数} = \frac{\text{原酶活力} - \text{储存后酶活力}}{\text{原酶活力}}$$

本发明的纤维素酶增效保护剂及其处理纤维素系纤维的方法的优点就在于：

1. 由于增效保护剂的加入，在使用条件下，释放最大的活力。与不加增效保护剂的液体粗制纤维素酶相比，活力可有大的提高，在室温下储存6个月，活力损失小于10%，相同效果时，用量可减少三分之一，储存期可延长1个月以上。

2. 本发明的纤维素酶增效保护剂及其处理纤维素系纤维的方法降低了成本，提高了效率。

用以下实施例对本发明作进一步的说明，将有助于对本发明及其优点的理解，本发明不受这些实施例的限定，本发明的保护范围由权利要求书

来决定。

实施例1

本实施例中所用的纤维素酶增效保护剂含有作为有机溶剂的3.0摩尔/升的山梨醇水溶液为3% (重量百分数, 下同), 作为非离子表面活性剂 1.5摩尔/升的芳基聚氧乙烯醚水溶液为0.5%, 作为保护剂的0.2摩尔/升的甲基纤维素水溶液为1.5%, 0.5摩尔/升的醋酸水溶液为2%, 0.5摩尔/升的醋酸钠水溶液为2%, 余量为水。

按上述成份和含量均匀混合1.5小时而成纤维素酶增效保护剂。

所用的纤维素酶为国产粗制纤维素酶, 辽宁酶制剂厂所生产。

用本实施例配制的纤维素酶增效保护剂0.5公斤, 辽宁酶制剂厂出售的粗制纤维素酶固体粉末1公斤和1公斤水配制成含有20% 纤维素酶增效保护剂, 40%粗制纤维素酶固体粉末, 40%水的水溶液, 充分搅拌1.5小时, 于25℃进行储存6个月。

其对照组只用辽宁酶制剂厂产的1.5公斤粗制纤维素酶固体粉末配成与试验组体积相同的水溶液于25℃储存6个月。

试验组和对照组均取100公斤纯棉布 (7⁸·7⁸) 和上述配制的两种水溶液分别以1:15的浴比于PH=5, 50℃的温度下, 浸泡下搅动60分钟, 得到的实验结果如下: 见表1

表1 实施例1的试验结果

| 项目 | 试验组 | 对照组 |
|--------------------|-------|-------|
| 纯棉布重 (7*7) | 100公斤 | 100公斤 |
| 粗制纤维素酶 (辽宁酶制剂厂) | 1公斤 | 1.5公斤 |
| PH值 | 5.0 | 5.0 |
| 温度℃ | 50 | 50 |
| 浴比 | 1:15 | 1:15 |
| 时间 | 60分钟 | 60分钟 |
| 减量率 | 3.53% | 3.51% |
| 储存6个月相对活力 | 96% | 88% |

从上述的试验结果表明, 达到相同减量效果时, 试验组比对照组纤维

素酶用量减少三分之一，增效30%，储存6个月后，活力损失减少8%，活力测定采用滤纸酶活测定法。

实施例2

本实施例的操作方法基本同实施例1，所用的纤维素酶增效保护剂的成分及含量完全同实施例1。唯不同的是所用的纤维素酶增效保护剂0.5公斤，辽宁酶制剂厂产粗制纤维素酶固体粉末为0.36公斤，水0.64公斤，配制成含有33.3%纤维素酶增效保护剂，24.7%的粗制纤维素酶固体粉末，42.7%的水的水溶液，充分搅拌2小时，于25℃进行储存6个月，实验结果如下，见表2。其对照组只用辽宁酶制剂厂产的0.5公斤粗制纤维素酶固体粉末。

表2 实施例2的试验结果

| 项目 | 试验组 | 对照组 |
|--------------------|--------|-------|
| 纯棉牛仔布重 (16×16) | 10公斤 | 10公斤 |
| 粗制纤维素酶 (辽宁酶制剂厂) | 0.36公斤 | 0.5公斤 |
| PH值 | 4.7 | 4.7 |
| 温度℃ | 55 | 55 |
| 浴比 | 1:15 | 1:15 |
| 时间 | 60分钟 | 60分钟 |
| 减量率 | 2.75% | 2.0% |
| 储存6个月相对活力 | 90% | 80% |

实施例3

本实施例的操作方法基本同实施例1，唯不同的是本实施例所用的纤维素酶增效保护剂含有作为有机溶剂的1.0摩尔/升的丙三醇水溶液5%（重量百分数，下同），作为非离子表面活性剂的0.2摩尔/升的聚氧乙烯山梨醇酐单月桂酯水溶液为0.2%，作为保护剂的0.08摩尔/升的蔗糖水溶液为0.4%，1.0摩尔/升的甲酸水溶液为0.05%，余量为水。

按上述成份和含量均匀混合2.0小时而成纤维素酶增效保护剂。

所用的纤维素酶为国产粗制纤维素酶，江苏盐城酶制剂厂生产。

用本实施例配制的纤维素酶增效保护剂0.6公斤，江苏盐城酶制剂厂生产出出售的粗制纤维素酶固体粉末0.6公斤和1.2公斤水配制成含有25%纤维素酶增效保护剂，25%粗制纤维素酶固体粉末，50%的水的水溶液，充分

搅拌2.0小时，于25℃进行储存6个月。

其对照组只用江苏盐城酶制剂厂所出售的0.9公斤粗制纤维素酶配成与试验组体积相同的水溶液于25℃储存6个月。

试验组和对照组均取30公斤纯棉布高支府绸(40^B×40^B)和上述配制的两种水溶液分别以1:15的浴比于PH 4.5, 50℃的温度下，浸泡下搅动 45分钟，得到的实验数据见表3

表3 实施例3的试验结果

| 项目 | 试验组 | 对照组 |
|----------------------|-------|-------|
| 纯棉布重(40×40) | 30公斤 | 30公斤 |
| 粗制纤维素酶 (江苏盐城酶制剂厂) | 0.6公斤 | 0.9公斤 |
| PH值 | 4.5 | 4.5 |
| 温度℃ | 50 | 50 |
| 浴比 | 1:15 | 1:15 |
| 时间 | 45分钟 | 45分钟 |
| 减量率 | 3.05% | 2.98% |
| 储存6个月相对活力 | 92% | 85% |

从上述的试验结果表明,试验组纤维素酶用量减少三分之一(增效30%),减量率提高0.07%,储存6个月后活力损失减少7%。

总之,添加增效保护剂的粗制纤维素酶,提高了纤维素酶的活力,用量减少了三分之一,储存相同时间活力损失减少7%以上,能够达到增效保护的目的。